

## 식물추출물의 Matrix Metalloproteinase-2에 대한 저해활성

이상명 · 전효곤 · 이호재 · 이충환 · 김진희 · 고영희\*

한국생명공학연구원

### Inhibitory Activity of Plant Extracts on Matrix Metalloproteinase-2

SangMyung Lee, HyoKon Chun, HoJae Lee, ChoongHwan Lee, JinHee Kim and YungHee Kho\*

Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, P.O. Box 115, Yusong, Taejon 305-600, Korea

**Abstract** – The inhibitory effects of methanol extracts of 165 medicinal herbs on matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) activity were investigated. Amongst the herbal extracts, *Youngia denticulate*, *Platycarya strobilacea*, *Sedum kamtschaticum*, *Euscaphis japonica*, and *Cornus controversa* showed a significant inhibitory effect with above 80% at 1 µg/ml. Above mentioned five kind extracts, which exclude polyphenols and/or tannin by techniques for their removal, showed a mild inhibitory effect on MMP-2 activity except for *Y. denticulate* at the same concentration.

**Key words** – matrix metalloproteinase-2, *Youngia denticulate*

암의 전이과정은 전이성 암세포가 최초발생부위에서 이탈하여 주변조직으로 침윤하여 다른 부위에서의 증식에 의해 2차 종양을 형성하게 되는 일련의 과정에 의해 이루어진다. 즉, 전이 과정은 이동, 정착, 침윤의 세가지 주요 단계로 구성되며,<sup>1)</sup> 이 과정에 있어서 MMP-2를 포함한 여러 금속단백분해효소(matrix metalloproteinase, MMP)들은 암세포가 세포외기질(extracellular matrix, ECM) 과 기저막(basement membrane, BM)을 분해하여 암세포의 침윤을 유도하는데 중요한 역할을 한다.<sup>2)</sup> MMPs는 ECM와 BM 성분의 분해에 관여하는 분비형 또는 막통과형 효소의 일군으로 구조와 기능적 특성에 따라 BM의 fibrillar collagen을 분해하는 collagenase 와 proteoglycan, glycoprotein 등을 분해하는 stromelysin, BM의 collagen과 gelatin을 분해하는 gelatinase, 그리고 membrane type MMP(MT-MMP) 등 크게 4개의 subfamily가 존재하며, 최근 collagenase-3 및 4개의 MT-MMP를 포함하여 17종류가 분리 확인 되었다.<sup>3)</sup> 특히, 이들 효소 중 MMP-2와 MMP-9는 BM의 주성분인 type IV collagen을 분해하는 효소로서<sup>4)</sup> B16-F10과 같은 고전이성 암세포주에서 과다 분비되는 것으로 알려져 있다.<sup>5)</sup> 이와 같이 암세포의 생육이나 전이의 동물실험 모델에 있어서 MMP-2 및 MMP-9의 암세포전이 억제제의 표적 효소로서의

중요성이 평가됨에 따라 이 효소들의 저해제에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

저자 등은 식물성분으로부터 MMP-2 저해물질 탐색을 목적으로 국내에서 자생하는 식물 165종을 무작위로 선정하여 그의 MeOH 추출물들의 MMP-2에 대한 형광성기질 분해 저해활성을 검사하였다.

#### 재료 및 방법

**식물재료** – 실험에 사용한 165종의 시료는 전국의 산야에 자생하는 식물을 채취, 음건, 쇄절 후 메탄올에 냉침하여 그의 추출물을 감압 농축한 것이다. 이들 각 시료들은 다시 메탄올에 10 mg/ml로 희석하여 스크리닝실험에 사용하였다.

**MeOH 추출물로부터 polyphenolic 화합물의 제거** – 각 시료들 중에 함유된 tannin 등의 polyphenol 화합물을 제거하기 위하여 Wall 등의 방법을 사용하였다.<sup>6)</sup> 즉, 1 ml (10 mg/ml)의 식물 시료에 0.1 g의 vinylpyrrolidone (PVP) 0.1 g을 가하고 30분간 37°C에서 반응시킨 후 14000 g에서 20분간 원심분리하여 상등액을 취하여 감압건조 한 후 시료로 사용하였다.

**시약 및 사용기기** – 시료 제조에 사용한 vinylpyrrolidone (PVP)는 Sigma, 기질분해 효소로 사용한 ProMMP-2는

\*교신저자(E-mail) : ykkho@mail.kribb.re.kr

Table I. Inhibitory effects of methanol extracts from medicinal plants on MMP-2

Kor. name	Scientific name	Family name	Used part	MMP-2 inhibitor	
				effect <sup>1)</sup>	% <sup>2)</sup>
(참)오동나무	<i>Paulownia tomentosa</i>	Scrophulariaceae	Stem	-	10 ± 1.4
(참)오동나무	<i>Paulownia tomentosa</i>	Scrophulariaceae	Fruit	-	12 ± 0.8
(참)오동나무	<i>Paulownia tomentosa</i>	Scrophulariaceae	Leaf	-	5 ± 1.7
(참)오동나무	<i>Paulownia tomentosa</i>	Scrophulariaceae	Pericarp	+	23 ± 1.2
갈매나무	<i>Rhamnus davurica</i>	Rhamnaceae	Stem	-	-3 ± 0.9
갈매나무	<i>Rhamnus davurica</i>	Rhamnaceae	Leaf	-	4 ± 1.6
개감수	<i>Euphorbia sieboldiana</i>	Euphorbiaceae	Whole	-	13 ± 2.1
개구리발톱	<i>Aquilegia adoxoides</i>	Ranunculaceae	Stem, Leaf	-	20 ± 3.1
개대황	<i>Rumex longifolius</i>	Polygonaceae	Root	-	2 ± 1.0
개비자나무	<i>Cephalotaxus koreana</i>	Taxaceae	Stem, Leaf	-	14 ± 1.2
개시호	<i>Bulpleurum longiradiatum</i>	Umbelliferaeaceae	Whole	-	11 ± 0.2
개오동나무	<i>Catalpa ovata</i>	Bignoniaceae	Stem	-	3 ± 0.2
거지덩굴	<i>Cayratia japonica</i>	Vitaceae	Whole	-	-10 ± 1.6
결명자	<i>Cassiae tora</i>	Leguminosa	Root	++	41 ± 2.7
결명자	<i>Cassiae tora</i>	Leguminosa	Aerial part	+	32 ± 2.1
고광나무	<i>Philadelphus schrenckii</i>	Saxifragaceae	Leaf	-	12 ± 0.9
고비	<i>Osmunda japonica</i>	Osmundaceae	Aerial part	-	3 ± 0.1
고비	<i>Osmunda japonica</i>	Osmundaceae	Root	-	15 ± 2.1
고추나물	<i>Hypericum erectum</i>	Guttiferae	Whole	-	10 ± 1.1
골풀	<i>Juncus effusus</i>	Juncaceae	Whole	-	-12 ± 1.1
곰취	<i>Ligularia fischeri</i>	Compositae	Whole	++	42 ± 2.1
관중	<i>Dryopteris crassirhizoma</i>	Aspidiaceae	Root	+++	74 ± 1.7
광대수염	<i>Laminum barbatum</i>	Labiatae	Stem, Leaf	+	38 ± 2.0
구절초	<i>Chrysanthemum zawadskii</i>	Compositae	Whole	++	54 ± 1.6
국수나무	<i>Stephanandra incisa</i>	Rosaceae	Aerial part	-	18 ± 1.9
굴거리나무	<i>Daphniphyllum macropodum</i>	Euphorbiaceae	Fruit	-	13 ± 1.1
굴피나무	<i>Platycarya strobilacea</i>	Juglandaceae	Aerial part	++++ (++)	90 ± 2.1 (41 ± 1.6)
금불초	<i>Inura britannica</i>	Compositae	Whole	-	1 ± 0.2
금창초	<i>Ajuga decumbens</i>	Labiatae	Stem, Leaf	+	23 ± 1.9
기린초	<i>Sedum kamtschaticum</i>	Crassulaceae	Whole	++++ (++)	89 ± 4.7 (43 ± 2.1)
긴담배풀	<i>Carpesium divaricatum</i>	Compositae	Whole	-	16 ± 1.2
까마귀머루	<i>Vitis thunbergii</i>	Vitaceae	Aerial part	-	16 ± 2.1
꼭두서니	<i>Rubia akane</i>	Rubiaceae	Root	++	54 ± 2.3
꼭두서니	<i>Rubia akane</i>	Rubiaceae	Aerial part	++	43 ± 1.4
꽃향유	<i>Elsholtzia splendens</i>	Labiatae	Whole	-	-2 ± 1.0
나도물통이	<i>Nanocnide japonica</i>	Urticaceae	Whole	-	12 ± 2.1
나도하수오	<i>Pleuropterus cilinervis</i>	Polygonaceae	Root	-	0 ± 0.3
나비나물	<i>Vicia unijuga</i>	Leguminosa	Whole	-	-5 ± 3.2
노랑하늘타리	<i>Trichosanthes</i>	Cucurbitaceae	Aerial part	-	-12 ± 6.1
노루발	<i>Pyrola japonica</i>	Pyrolaceae	Whole	-	10 ± 1.1
노루오줌	<i>Astilbe chinensis</i>	Saxifragaceae	Root	-	7 ± 2.3
노루오줌	<i>Astilbe chinensis</i>	Saxifragaceae	Aerial part	-	9 ± 2.1

Table I. Continued

Kor. name	Scientific name	Family name	Used part	MMP-2 inhibitor	
				effect <sup>1)</sup>	% <sup>2)</sup>
노박덩굴	<i>Celastrus orbiculatus</i>	Celastraceae	Stem	+	23 ± 1.1
녹나무	<i>Cinnamomum camphora</i>	Lauraceae	Fruit	-	0 ± 1.1
다래나무	<i>Actinidia arguta</i>	Actinidiaceae	Stem	-	0 ± 2.3
다릅나무	<i>Maackia amurensis</i>	Fabaceae	Stem	-	-10 ± 3.2
까마귀쪽나무	<i>Litsea japonica</i>	Lauraceae	Leaf	-	-13 ± 1.2
닥나무	<i>Broussonetia kazinoki</i>	Moraceae	Leaf	-	-9 ± 1.0
단풍취	<i>Ainsliaea acerifolia</i>	Compositae	Whole	-	19 ± 2.1
단풍취	<i>Ainsliaea acerifolia</i>	Compositae	Stem, Leaf	-	10 ± 2.9
단풍취	<i>Ainsliaea acerifolia</i>	Compositae	Root	-	0 ± 1.1
달맞이꽃	<i>Oenothera odorata</i>	Onagraceae	Aerial part	-	-1 ± 1.0
댕댕이덩굴	<i>Cocculus trilobus</i>	Menispermaceae	Stem	-	12 ± 3.1
덤불오리나무	<i>Alnus fruticosa</i>	Betulaceae	Stem, Leaf	-	5 ± 2.5
덩굴딸기(줄딸기)	<i>Rubus pungens</i>	Rosaceae	Whole	-	2 ± 1.0
도깨비부채	<i>Rodgersia podophylla</i>	Saxifragaceae	Root	-	8 ± 1.1
도꼬마리	<i>Xanthium strumarium</i>	Compositae	Whole	-	0 ± 1.6
도깨비바늘	<i>Bidens bipinnata</i>	Compositae	Whole	+	21 ± 1.2
돌단풍	<i>Aceriphyllum rosii</i>	Saxifragaceae	Root	-	-11 ± 2.1
동자꽃	<i>Lychnis cognata</i>	Caryophyllaceae	Whole	-	-12 ± 3.1
두충	<i>Eucommia ulmoides</i>	Eucommiaceae	Whole	-	18 ± 2.1
등근잎조팝나무	<i>Spiraea betulifolia</i>	Rosaceae	Whole	-	12 ± 1.0
들깨풀	<i>Mosla punctulata</i>	Labiatae	Whole	+	28 ± 0.1
등골나물	<i>Eupatorium chinensis</i>	Compositae	Whole	-	10 ± 2.1
등나무	<i>Wisteria floribunda</i>	Leguminosa	Stem	++	59 ± 0.3
등축	<i>Aristolochia manshuriensis</i>	Aristolochiaceae	Stem	-	9 ± 3.1
딱지꽃	<i>Potentilla chinensis</i>	Rosaceae	Whole	-	2 ± 2.1
딱총나무	<i>Sambucus williamsii</i>	Caprifoliaceae	Stem, Leaf	-	-1 ± 3.7
떡쑥	<i>Gnaphalium affine</i>	Compositae	Whole	+	15 ± 2.6
퐁판지	<i>Helianthus tuberosus</i>	Compositae	Aerial part	-	17 ± 2.5
마가목	<i>Sorbus commixta</i>	Rosaceae	Cortex	-	11 ± 1.1
마름	<i>Trapa japonica</i>	Trapaceae	Whole	-	-1 ± 1.4
마삭줄	<i>Trachelospermum asiaticum</i>	Apocynaceae	Aerial part	-	-13 ± 2.5
마삭줄	<i>Trachelospermum asiaticum</i>	Apocynaceae	Fruit	-	10 ± 2.1
마타리	<i>Patrinia scabiosaefolia</i>	Valerianaceae	Root	-	17 ± 4.2
만병초	<i>Rhododendron brachycarpum</i>	Ericaceae	Stem, Leaf	-	18 ± 1.4
말오줌대	<i>Euscaphis japonica</i>	Staphyleaceae	Aerial part	++++ (+)	90 ± 3.5 (31 ± 2.1)
맑은대쑥	<i>Artemisia keiskeana</i>	Compositae	Whole	-	10 ± 1.1
매듭풀	<i>Kummerowia striata</i>	Leguminosa	Stem, Leaf	+++	75 ± 2.5
매발톱나무	<i>Berberis amurensis</i>	Berberidaceae	Whole	-	16 ± 3.1
머귀나무	<i>Zanthoxylum allanthoides</i>	Rutaceae	Aerial part	-	9 ± 4.0
멸가치	<i>Adenocaulon himalaicum</i>	Compositae	Whole	-	-1 ± 2.0
무릇	<i>Scilla scilloides</i>	Liliaceae	Whole	-	-20 ± 2.1
문주란	<i>Crinum asiaticum</i>	Amaryllidaceae	Bulb	-	0 ± 3.8
물레나물	<i>Hypericum ascyron</i>	Guttiferae	Whole	-	10 ± 2.1

Table I. Continued

Kor. name	Scientific name	Family name	Used part	MMP-2 inhibitor	
				effect <sup>1)</sup>	$\alpha$ <sup>2)</sup>
물매화	<i>Parnassia palustris</i>	Saxifragaceae	Whole	-	14 ± 1.5
물양지꽃	<i>Potentilla cryptotaeniae</i>	Rosaceae	Whole	-	12 ± 1.9
미역취	<i>Solidago virga-aurea</i>	Compositae	Whole	+	21 ± 1.4
바위취	<i>Saxifraga stolonifera</i>	Saxifragaceae	Whole	++	42 ± 3.9
박새	<i>Veratrum patulum</i>	Liliaceae	Root	-	9 ± 2.0
박취나무	<i>Alangium platanifolium</i>	Alangiaceae	Stem	-	2 ± 1.2
박태기나무	<i>Cercis chinensis</i>	Leguminosa	Stem	-	12 ± 1.1
백록련	<i>Magnolia denudata</i>	Magnoliaceae	Fruit	-	17 ± 1.4
뱀무	<i>Geum japonicum</i>	Rosaceae	Whole	-	10 ± 1.8
부처꽃	<i>Lythrum anceps</i>	Lythraceae	Whole	-	13 ± 2.1
붉은서나물	<i>Erechtites hieracifolia</i>	Compositae	Whole	-	-2 ± 3.3
붉은대극	<i>Euphorbia ebracteolata</i>	Euporbiaceae	Whole	+++	78 ± 3.8
비비추	<i>Hosta longipes</i>	Liliaceae	Root	-	2 ± 2.0
비수리	<i>Lespedeza cuneata</i>	Leguminosa	Whole	-	2 ± 1.0
사람주나무	<i>Sapium japonicum</i>	Euphorbiaceae	Stem, Leaf	-	3 ± 1.1
사상자	<i>Torilis japonica</i>	Umbelliferaeaceae	Whole	-	-1 ± 1.9
사위질빵	<i>Clematis apiifolia</i>	Ranunculaceae	Whole	-	10 ± 4.1
사철나무	<i>Euonnmus japonica</i>	Celastraceae	Fruit	-	13 ± 1.9
사철쑥	<i>Artemisa capillaris</i>	Compositae	Whole	-	12 ± 2.1
산국	<i>Chrysanthemum boreale</i>	Compositae	Flora	-	1 ± 2.2
산수국	<i>Hydrangea serrata</i>	Saxifragaceae	Aerial part	+++	73 ± 3.1
상산	<i>Orixa japonica</i>	Rutaceae	Stem, Leaf	-	1 ± 1.9
새모래덩굴	<i>Menispermum dahuricum</i>	Menispermaceae	Leaf	-	-1 ± 1.0
생강나무	<i>Lindera obtusiloba</i>	Lauraceae	Stem, Leaf	-	15 ± 2.1
생이가래	<i>Salvinia natans</i>	Salviniaceae	Whole	-	12 ± 4.1
서양칠엽수	<i>Aesculus turbinata</i>	Hippocastanaceae	Leaf	-	10 ± 2.0
솔장다리	<i>Salsola collina</i>	Chenopodiaceae	Whole	-	0 ± 1.8
숨나물	<i>Leibnitzia anandria</i>	Compositae	Whole	-	18 ± 1.1
송이풀	<i>Pedicularis resupinata</i>	Scrophulariaceae	Whole	-	10 ± 4.7
송장풀	<i>Leonurus macranthus</i>	Labiatae	Whole	+	21 ± 2.1
수까치깨	<i>Corchoropsis tomentosa</i>	Sterculiaceae	Aerial part	-	0 ± 0.4
영경귀	<i>Cirsium japonicum</i>	Compositae	Flora	+	29 ± 4.9
영경귀	<i>Cirsium japonicum</i>	Compositae	Aerial part	++	43 ± 10.2
여로	<i>Veratrum maackii</i>	Liliaceae	Rhizome	-	19 ± 3.5
여우오줌	<i>Carpesium macrocephalum</i>	Compositae	Leaf	-	-10 ± 5.2
예덕나무	<i>Mallotus japonicus</i>	Euphorbiaceae	Aerial part	-	12 ± 5.9
오리방풀	<i>Plectranthus excisus</i>	Labiatae	Leaf	+	21 ± 3.9
오리방풀	<i>Plectranthus excisus</i>	Labiatae	Stem	+	26 ± 1.0
왕고들빼기	<i>Lactuca indica</i>	Compositae	Whole	-	-5 ± 0.4
왕머루	<i>Vitis amurensis</i>	Vitaceae	Aerial part	-	-2 ± 0.3
우산나물	<i>Syneilesis palmata</i>	Compositae	Whole	-	12 ± 2.0
원추리	<i>Hemerocallis fulva</i>	Liliaceae	Tuberous root	-	10 ± 2.8
은방울꽃	<i>Convallaria keiskei</i>	Liliaceae	Whole	-	-2 ± 1.1
은조롱	<i>Cynanchum wilfordii</i>	Asclepiadaceae	Aerial part	-	2 ± 3.2

Table I. Continued

Kor. name	Scientific name	Family name	Used part	MMP-2 inhibiton	
				effect <sup>1)</sup>	% <sup>2)</sup>
인동덩굴	<i>Lonicera japonica</i>	Caprifoliaceae	Aerial part	-	1 ± 1.0
이고들빼기	<i>Youngia denticulata</i>	Compositae	Whole	++++ (++++)	90 ± 0.9 (88 ± 2.1)
자귀나물	<i>Albizia julibrissin</i>	Leguminosa	Aerial part	-	17 ± 3.0
자리풀	<i>Hydrocharis dubia</i>	Hydrocharitaceae	Whole	-	12 ± 2.2
작살나무	<i>Callicarpa japonica</i>	Verbenaceae	Stem	-	10 ± 3.0
장구채	<i>Melandryum firmum</i>	Caryophyllaceae	Whole	-	1 ± 0.6
조록나무	<i>Distylium racemosum</i>	Hamamelidaceae	Aerial part	-	2 ± 4.9
조뱅이	<i>Breea segeta</i>	Compositae	Whole	-	1 ± 2.0
조희풀	<i>Clematis heracleifolia</i>	Ranunculaceae	Stem, Leaf	-	3 ± 1.1
죽제비싸리	<i>Amorpha fruticosa</i>	Leguminosa	Aerial part	-	-4 ± 2.0
좁개잎나무	<i>Boehmeria spicata</i>	Urticaceae	Whole	-	12 ± 1.7
죽단화	<i>Kerria japonica</i>	Rosaceae	Aerial part	-	18 ± 4.9
쥐다래나무	<i>Actinidia kolomikta</i>	Actinidiaceae	Stem, Leaf	-	1 ± 3.3
지칭개	<i>Hemistepta lyrata</i>	Compositae	Whole	-	2 ± 2.9
진득찰	<i>Siegesbeckia glabrescens</i>	Compositae	Stem, Leaf	-	-9 ± 5.9
짚신나물	<i>Agrimonia pilosa</i>	Rosaceae	Whole	+++	71 ± 9.0
쪽동백	<i>Styrax obassia</i>	Styracaceae	Whole	-	13 ± 0.6
참마	<i>Dioscorea japonica</i>	Dioscoreaceae	Aerial part	-	1 ± 2.8
참중나무	<i>Cedrela sinensis</i>	Meliaceae	Leaf	-	-1 ± 1.2
참취	<i>Aster scaber</i>	Compositae	Whole	-	19 ± 4.8
참취	<i>Aster scaber</i>	Compositae	Root	+	32 ± 2.1
참취	<i>Aster scaber</i>	Compositae	Aerial part	-	-5 ± 4.0
춧대승마	<i>Cimicifuga simplex</i>	Ranunculaceae	Whole	-	14 ± 3.2
층층나무	<i>Cornus controversa</i>	Cornaceae	Stem	++++ (-)	91 ± 1.9 (17 ± 1.0)
콩짜개덩굴	<i>Lemmaphyllum microphyllum</i>	Polypodiaceae	Whole	-	2 ± 0.9
큰개불알꽃	<i>Cypripedium guttatum</i>	Orchidaceae	Stem, Leaf	-	13 ± 7.0
큰까치수염	<i>Lysimachia chlethroides</i>	Primulaceae	Whole	-	-1 ± 2.6
털진득찰	<i>Siegesbeckia pubescens</i>	Compositae	Stem	-	12 ± 3.3
팔손이나무	<i>Fatsia japonica</i>	Araliaceae	Stem	-	18 ± 3.2
패랭이꽃	<i>Dianthus chinensis</i>	Caryophyllaceae	Whole	-	-2 ± 2.9
풀거북꼬리	<i>Boehmeria tricuspis</i>	Urticaceae	Aerial part	-	19 ± 2.0
할미꽃	<i>Pulsatilla koreana</i>	Ranunculaceae	Whole	-	10 ± 0.3
홀아비꽃대	<i>Chloranthus japonica</i>	Chloranthaceae	Whole	++	51 ± 0.1
잇꽃	<i>Carthamus tinctorius</i>	Compositae	Whole	-	10 ± 3.7
회양목	<i>Buxus microphylla</i>	Buxaceae	Stem, Leaf	-	13 ± 2.1

<sup>1)</sup>The symbols used for the effect are represented as follows: -:<20% inhibition occurred, +:20-40%, ++:40-60%, +++:60-80%, ++++:>80.

<sup>2)</sup>Each samples was treated 1 µg/ml and results are mean of triplicate.

<sup>3)</sup>The sample excludes tannin or/and polyphenols by Wall's method.

Boehringer Mannheim에서 구입하였고, MMP-2에 대한 형광기질로 사용한 7-methoxycoumarin 4-yl-acetyl-Pro-Leu-Gly-Leu-(2-[2,4-dinitrophenyl]-2,3-diaminopropionyl)-Ara-

Arg-NH<sub>2</sub> (Mca-Pro-Leu-Gly-Leu-Dpa(Dnp)-Ara-Arg-NH<sub>2</sub>)는 Sigma에서 구입하여 사용하였다. MMP-2 활성저해 평가에 사용한 형광광도계는 Perkin-Elmer LS-50B를 사용하

였으며 Fluorescence Data Manager Software는 Perkin-Elmer, UK를 이용하였다. TIMP-2 free proMMP-2를 MMP-2로 활성화시키기 위한 p-aminophenylmercuric acetate (APMA)는 Sigma에서 구입하였다. 그리고 활성저해실험에 사용된 반응조는 white 96 well plate로서 Nunc 제품을 구입하여 사용하였다. 그 외 실험에 사용한 각종 시약 및 용매류는 특급시약을 사용하였다.

**MMP-2 활성저해 실험** - TIMP-2 free proMMP-2(85 µg/ml) 용액 2 µl에 APMA(50 mM) 용액 1 µl를 97 µl의 TNBC 완충액에 가하여 15분간 37°C에서 반응하여 활성형 MMP-2를 만든다. MMP-2에 대한 형광성 기질인 Mca-Pro-Leu-Gly-Leu-Dpa(Dnp)-Ara-Arg-NH<sub>2</sub>(10 µM) 10 µl와 측정 시료(각 10 mg/ml) 1 µl를 84 µl의 TNBC 완충액에 가한 후 앞에서 언급한 활성형 MMP-2용액 5 µl를 가하여 37°C에서 30분간 반응한다. 대조군은 동일한 방법으로 하며 시료를 가하지 않은 것으로 한다. 실험에 사용된 TNBC 완충액은 Tris-HCl (20 mM), CaCl<sub>2</sub> (5 mM), NaCl (0.15 M)을 pH 7.5로 제조하여 사용한다.

**MMP-2 활성측정** - 측정시료에 대한 MMP-2 저해활성은 Spectrofluorometer LS-50B를 사용하였으며 325 nm를 반응물에 흡수시켜 420 nm 영역에서 방출되는 형광을 측정하였다. 활성도는 시료처리군의 형광도/대조군의 형광도에 대한 백분율로 평가하였다.

## 결과 및 고찰

형광성기질인 Mca-Pro-Leu-Gly-Leu-Dpa(Dnp)-Ara-Arg-NH<sub>2</sub>은 MMP-2에 의하여 분해되어 Mca-Pro-Leu-Gly (MW=501.5)인 형광성 peptide로 전환된다. 이때 325 nm 영역의 파장에 의하여 420 nm의 형광을 방출하게 된다. 따라서 MMP-2의 활성을 저해하면 기질에서 방출되는 형광이 감소하여 대조군보다 낮은 형광수치를 나타내며 이 수치를 비교하여 시료에 대한 MMP-2 저해 활성도를 알 수 있다. Table I에 의하면 Mca-Pro-Leu-Gly-Leu-Dpa(Dnp)-Ara-Arg-NH<sub>2</sub>의 분해 효소인 MMP-2에 대한 165종 식물의 MeOH 추출물의 저해활성은 *Platycarya strobilacea*, *Sedum kamtschaticum*, *Euscaphis japonica*, *Youngia denticulate*, *Cornus controversa*를 비롯한 30종의 식물 추출물에서 나타났다. 특히, 위에서 언급한 5종의 시료는 80% 이상의 강한 활성을 나타내고있다. 이들 5종의 식물 MeOH 추출물들을 Wall 등의 polyphenol 및 tannin 제거 방법에 의하여 처리하여 활성을 측정할 바, *Y. denticulate* 제외한 4종의 식물 추출물에서 MMP-2 활성 저해율(< 50%)이 낮은 것을 알 수 있었다. 문헌에 보고된 바에 의하면 *P. strobilacea* 수피

의 acetone (7% aq.) 추출물은 ellagic acid 배당체들을 다량 함유하고 있으며<sup>7)</sup> 마찬가지로 *E. japonica*, *C. controversa*<sup>8)</sup>의 수피 추출물에도 다량의 tannin이 존재한다는 것이 보고되어있다. 이와 같은 tannin계 화합물은 MMP-2와 같은 peptide계 효소에 비특이적으로 흡착되므로 *P. strobilacea*, *E. japonica*, *C. controversa*의 MeOH 추출물이 MMP-2에 대하여 특이적 저해활성을 나타낸다고 판단하기는 어렵다. 마찬가지로 *S. chamchaticum* 등의 *Sedum*속 식물은 kaempferol, herbacetin, sexangularetin 등과 같은 flavonol<sup>9)</sup> 및 tannins<sup>10)</sup>을 다량 함유하고 있다. 즉, *P. strobilacea*, *S. kamtschaticum*, *E. japonica*, *C. controversa* MeOH 추출물은 모두 polyphenols 및 tannin계 화합물을 함유하고 있으며 이러한 화합물을 제거한 후 MMP-2에 대한 저해활성이 현저히 낮아지는 것으로 보아 이들이 MMP-2에 대하여 나타내는 강한저해활성은 tannin 등의 polyphenol계 화합물들의 MMP-2에 대한 비특이적 흡착에 기인하는 것으로 판단한다. 그러나 *Y. denticulate*는 MeOH 추출물 및 polyphenolic 화합물을 제거한 시료에서 각각 80% 이상의 높은 MMP-2 활성 저해율이 관찰되는 것으로 보아 *Y. denticulate*의 MeOH 추출물에서는 MMP-2에 대한 비교적 유용한 저해활성을 가진 화합물이 존재 할 것으로 판단된다.

## 결 론

*Platycarya strobilacea*, *Sedum kamtschaticum*, *Euscaphis japonica*, *Youngia denticulate*, *Cornus controversa*를 비롯한 30종의 식물 추출물에서 나타났다. 활성을 나타내는 시료들 중 MMP-2에 대하여 가장 강한 활성(> 80%)을 나타내는 *P. strobilacea*, *S. kamtschaticum*, *E. japonica*, *C. controversa*의 MeOH 추출물들은 그 함유성분 중 tannin 등의 polyphenolic 화합물들이 MMP-2에 대하여 비특이적 활성을 나타내는 것으로 판단된다. 반면 *Y. denticulate*는 한국의 산야에 널리 자생하는 식물로서 채취가 용이하며 그의 화학적 성분 연구가 미진한 상태이다. 특히 MMP-2에 대한 tannin 등의 polyphenolic 화합물들에 의한 비특이적 활성이 예측되지 않으므로 이 식물에 대한 적극적인 성분연구 및 그 화학성분에 대한 MMP-2 또는 그와 유사한 효소군에 대한 적절한 활성평가가 요구되어진다.

## 사 사

본 연구는 21세기 프론티어연구개발사업인 자생식물이용 기술개발사업단의 연구지원(과제번호 PF002107-00)에 의해 수행되었습니다.

## 인용문헌

1. Terranova, V. P., Liotta, L. A., Russo, R. G., and Martin, G. R. (1982) Role of laminin in the attachment and metasis of murine tumor cells. *Cancer Res.* **42**: 2265-2269.
2. Chambers, A. F., and Matrisian, L. M. (1997) Changing views of the role of matrix metalloproteinases in metastasis. *J. Natl. Cancer. Inst.* **89**: 1260-1270.
3. Johnson, L. L., Dyer, R., and Hupe, D. J. (1998) Matrix metalloproteinases. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2**: 466-471.
4. Melchiori, A., Albini, A., Ray, J. M., and Stetler-Stevenson, W. G. (1992) Inhibition of tumor cell invasion by a highly conserved peptide sequence from the matrix metalloproteinase enzyme prosegment. *Cancer Res.*, **52**: 2353-2356.
5. Noriko E., Dominic, F., and Isaiah, J. F., (1991) Inhibition of murine melanoma experimental metastasis by recombinant desulfatohirudin, a highly specific thrombin inhibitor. *Cancer Res.* **51**: 4549-4556.
6. Wall, M. E., Wani, M. C., Brown, D. M., Fullas, F., Oswald, J. B., Josephson, F. F., Thornton, N. M., Pezzuto, J. M., Beecher, C. W. W., Farnsworth, N. R., Cordell, G. A., Kinghorn, A. D., (1986) Effect of tannins on screening of plant extracts for enzyme inhibitory activity and techniques for their removal. *Phytochemistry* **25**: 2817-2820.
7. Tanaka, T., Jiang, Z. H., and Kouno, I., (1998) Distribution of ellagic acid derivatives and a diarylheptanoid in wood of *Platycarya strobilacea*. *Phytochemistry* **47**: 851-854.
8. Lee, D. H., Kang, S. J., Lee S. H., Ro, J. S., Lee, K. S., Kinghorn, A. D., Phenolic compounds from the lesves of *Cornus controversa*. (2000) *Phytochemistry* **53**: 405-407.
9. Stevens, J. F., Henkt, H., Elizabeth, T. E., Annabe, B. (1996) Flavonoid variation Eurasian sedum and sempervivum, *Phytochemistry* **41**: 503-512.
10. Stevens, J. F., Henkt, H., Roeland, C. H. J. Van. H., Elizabeth, T. E., Maya, M. V. X. Van Den E., Marjan, W., Jan, H. Z. (1995) Distribution of alkaloids and tannins in the Crassulaceae, *Biochem. Systems and Ecol.* **23**: 157-165.

(2002년 4월 18일 접수)